Alcool acétone

PRESENTATION

Réactif prêt à l'emploi :

- Flacon compte goutte 100ml **Réf : CLF01089**

DEFINITION

L'alcool acétone est utilisé lors de la coloration de GRAM pour la mise en évidence des bactéries GRAM positif et de bactéries GRAM négatif. L'alcool acétone
La coloration de Gram se fait en trois phases suivies d'une phase facultative de coloration du fond.

- La décoloration par l'alcool acétone qui est la troisième phase : Les bactéries Gram + sont colorés en violet foncé, les autres éléments ne sont pas colorés.

CONSERVATION

Les flacons se conservent pendant 2 ans à la température du laboratoire.

MODE D'EMPLOI

1. Préparation de l'échantillon :

• Etaler l'échantillon ou la culture bactérienne à analyser sur une lame de verre avec une anse ayant été préalablement stérilisée avec la flamme du bec Bunsen.
• Laisser la lame sécher à l'air pendant 5 minutes.
• Faire passer lentement l'étalement (côté étalé sur le dessus), trois fois, sur la partie supérieure de la flamme d'un bec Bunsen pour fixer l'échantillon.
• Laisser refroidir pendant 5 minutes

2. Coloration de Gram

• Tremper la lame dans le violet de Gentiane pendant 1 minute
• Laver à l'eau distillée à l'aide d'une pissette pour enlever l'excès de colorant
• Tremper la lame dans le Lugol pendant 1 minute
• Egoutter et recommencer avec le Lugol pendant 1 minute
• Rincer avec de l'eau distillée moyennant une pissette.
• Laver avec l'alcool Acétone jusqu'à disparition du violet de Gentiane
• Laver à l'eau distillée
• Tremper la lame dans la Fushine de Gram pendant 30 à 60 secondes
• Laver à l'eau distillée
• Essuyer la lame avec du papier imbibé d'alcool pour enlever l'excédent de colorant.
• Laisser sécher la lame sur du papier filtre.
• Observer au microscope

3. Lecture :

❖ Pour les microorganismes Gram-positifs : le complexe coloré iodé ne peut plus être dissous, hors de la cellule, par un produit de décoloration, comme l'alcool ou l'acétone. La cellule reste colorée en bleu violet.

❖ Pour les microorganismes Gram-négatifs : le complexe coloré iodé est dissous et la cellule est colorée en rose ou rouge par une contre-coloration.

CONTROLE QUALITE

Micro-organismes	Observation microscopique des bactéries
Escherichia coli ATCC 25922	Bactéries colorées en rose Bacilles Gram négatif
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Bactéries colorées en violet Cocci Gram positif